

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Maja Macut

6992/PT

**UTJECAJ TEMPERATURE PRŽENJA SJEMENKI NA
ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST BUČINOGA ULJA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija ulja i masti

Mentor: Doc.dr.sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj temperature prženja sjemenki na antioksidacijsku aktivnost bučinog ulja

Maja Macut, 0058205997

Sažetak: Tradicionalno se bučino ulje proizvodi kao nerafinirano ulje što uključuje proces prženja sjemenki prije izdvajanja ulja. Upravo je prženje kritična točka proizvodnje visokokvalitetnog bučinog ulja. Cilj ovog rada je bio odrediti utjecaj temperature prženja bučinih koštica na antioksidacijsku aktivnost proizvedenog bučinog ulja.

Antioksidacijska aktivnost je određena DPPH[•] metodom i utvrđeno je da temperatura prženja značajno utječe na antioksidacijsku aktivnost ($p < 0,05$). Povećanjem temperature vidljiv je trend povećanja antioksidacijske aktivnosti nerafiniranog bučinog ulja. Razlog tome vjerojatno je bolja ekstrakcija tokoferola te nastajanje produkata Maillardovih reakcija. Stoga bi se za proizvodnju bučinog ulja povećane antioksidacijske aktivnosti trebale koristiti više temperature prženja (130 i 140°C).

Ključne riječi: antioksidacijska aktivnost, bučino ulje, prženje

Rad sadrži: 21 stranica, 8 slika, 4 tablice, 35 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc.dr.sc Klara Kraljić

Datum obrane: srpanj, 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology**

**Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology**

The effect of seed roasting temperature on antioxidant activity of pumpkin seed oil

Maja Macut, 0058205997

Abstract: Traditionally, pumpkin seed oil is produced as a non-refined oil, which involves the process of frying the seeds before separating the oil. Frying is a critical point for production of high quality pumpkin seed oil. The aim of this paper was to determine the influence of the temperature of frying pumpkin seeds on antioxidant activity of produced oil. Antioxidant activity was determined by DPPH[•] method and it was found that frying temperature significantly affects on antioxidant activity ($p < 0.05$). By increasing the temperature there is a visible trend of increasing antioxidant activity of non-refined pumpkin seed oil. This is probably due to better tocopherol extraction and Maillard reaction products. Therefore, for production of pumpkin seed oil with increased antioxidant activity should use higher frying temperatures (130 and 140 °C).

Keywords: antioxidant activity, pumpkin seed oil, roasting

Thesis contains: 21 pages, 8 figures, 4 tables, 35 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Klara Kraljić, Assistant professor

Defence date: July, 2017.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Buča.....	2
2.1.1. Biljka i plod	2
2.1.2. Sjemenke buče.....	3
2.2. Bučino ulje.....	4
2.2.1. Proizvodnja bučinog ulja	4
2.3. Kemijski sastav bučinog ulja	6
2.3.1. Masne kiseline.....	6
2.3.2. Negliceridni sastojci	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. Materijal	12
3.2. Metode rada	13
3.2.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH` metodom	13
3.2.2. Statistička obrada.....	14
4. REZULTATI I RASPRAVA	15
5. ZAKLJUČAK.....	17
6. LITERATURA.....	18

1. UVOD

Proizvodnja buča (*Cucurbita pepo* L.) u svrhu dobivanja ulja, ali i bućinih koštica kao grickalica ima dugu tradiciju u Republici Hrvatskoj pogotovo u Podravini i Međimurju. Bućine koštice, obične i beskorke, sadrže veliki broj bioaktivnih sastojaka, poput sterola, tokoferola, karotenoida koji pokazuju antioksidacijska svojstva i pozitivno djeluju na zdravlje ljudi. Proizvodnjom ulja ovi bioaktivni sastojci u većoj ili manjoj mjeri prelaze i u ulje.

Bućino ulje spada u nerafinirana ulja i na tržištu se može pronaći kao nerafinirano ili kao hladno prešano ulje. Interes za ovim vrstama ulja posljednjih godina sve više raste. Razlog je što takva ulja se dobivaju isključivo mehaničkim putem (prešanjem), dok se kemikalije ne koriste za razliku od rafiniranih ulja. Tradicionalno se bućino ulje proizvodi kao nerafinirano ulje. Razlika proizvodnje nerafiniranog bućinog ulja, od ostalih nerafiniranih ulja je prženje bućinih sjemenki pri visokim temperaturama (120-140°C) prije procesa prešanja kako bi nastali spojevi koji ulju daju specifičnu aromu i okus. Osim toga, prženje utječe i na udio i sastav nekih važnih bioaktivnih spojeva bućinog ulja. Stoga će cilj ovog rada biti provesti odrediti utjecaj temperature prženja bućinih sjemenki na antioksidacijsku aktivnost pomoću metode redukcije koncentracije DPPH radikala.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Buča

2.1.1. Biljka i plod

Buča (tikva, bundeva) je jednogodišnja zeljasta biljka roda *Cucurbita*, porodice *Cucurbitaceae*. Najvažnije i najčešće uzgajane vrste roda *Cucurbita* su buče ili tikve (*Cucurbita pepo* L.), bundeva (*Cucurbita maxima* Duchesne) i bundeva šećerka (*Cucurbita moschata* Duchesne). Rastu pri velikom rasponu temperatura pa je areal njihove rasprostranjenosti vrlo širok. No, kako ima velike zahtjeve prema suncu područja hladnog, sjeverozapadnog dijela Europe, krajnjeg sjevera Amerike i sjeveroistoka Rusije za njen uzgoj su nepovoljna. U Europi se najviše uzgaja u Francuskoj, Italiji, Češkoj i Grčkoj zbog ploda koji se koristi u prehrani i za stočnu hranu, dok se u Austriji, Sloveniji i Hrvatskoj uzgaja zbog sjemenki i proizvodnje ulja.

Buče su jednogodišnje zeljaste biljke. Imaju vretenasto razvijen korjenov sistem, gdje glavni korijen prodire u dubinu od 1 m, a prostrano korijenje se rasprostranjuje na sve strane ispod površine tla. Stabljike su okrugle, dlakave ili glatke i mogu narasti do dužine 3 do 4 m. Za stabljiku su dugom lisnom peteljkom vezani listovi koji mogu biti različitog oblika. Buča je jednodomna biljka i razvija jednospolne cvjetove. Ženski cvjetovi su pojedinačni dok se muški razvijaju u grozdovima. Cvjetovi su veliki, žute do narančaste boje i sastoje se od 5 međusobno sraslih latica. Cvjetanje traje od lipnja do početka rujna i iz cvijeta se razvije plod. Oblik ploda je vrlo raznolik kao i boja, koja je najčešće žuta, narančasta (Slika 1.) ili zelena (Pleh i sur., 1998).

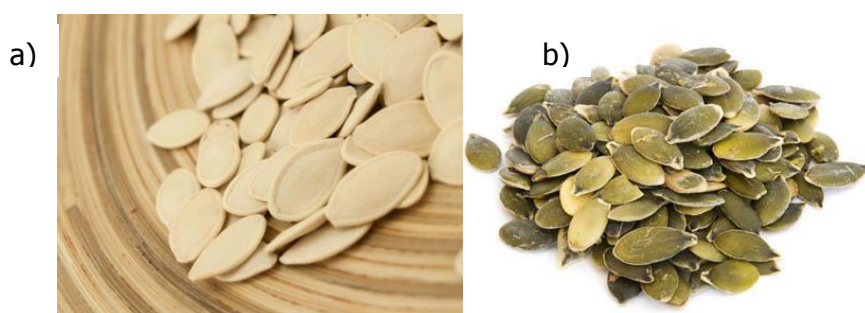


Slika 1. Plod buče (Anonymous 1, 2016)

2.1.2. Sjemenke buče

Unutar ploda buče nalaze se sjemenke i čine 2 do 3 % ploda. Sjeme je eliptičnog, spljoštenog oblika i ima jasno izražene rubove. Debljina je od 1 do 3 mm, a masa 1000 zrna je od 200 do 400 g, dok je hektolitarska masa od 35 do 42 kg L⁻¹. Bučine koštice koriste se za proizvodnju ulja pa je cilj bio stvoriti koštice s većim udjelom ulja. Provodilo se oplemenjivanje bundeva u svrhu dobivanja sjemenki s tankom ljuskom i većom količinom ulja, čime se posljedično smanjio udio celuloze. Bečki botaničar Tschermak-Seysenegg sa svojom školom je dobio sjeme s reduciranom sjemenom ljuskom, nama poznatu kao sjemenka beskorka odnosno golica. Takve koštice sadrže veći udio ulja i proteina, a manji udio celuloze pa sukladno tome i pogača proizvedene iz ovih koštica sadrži manje celuloze, a više proteina.

Boja sjemena ovisi o tome da li ono ima ljusku ili ne. Kod sjemenki s ljuskom boja je bijela, blijedožuta ili svijetlosmeđa dok je kod golica zelena (Slika 2) (Pleh i sur., 1998).



Slika 2. Bučine koštice: a) obična koštica (Anonymus 2, 2016) b) golica (beskorka) (Anonymous 3, 2015)

Bučine koštice sadrže između 42 i 49 % masti većinom nezasićenih masnih kiselina. Postotak bjelančevina doseže 32%, a sve esencijalne aminokiseline zastupljene su u optimalnom omjeru (Tablica 1) (Rac, 1964).

Tablica 1. Sastav sjemena golice (Rac, 1964)

Komponenta	Udio (%)
Ulje	42,2-48,8
Proteini	32,45
Voda	5,7-7,4
Pepeo	3,58

2.2. Bučino ulje

2.2.1. Proizvodnja bučinog ulja

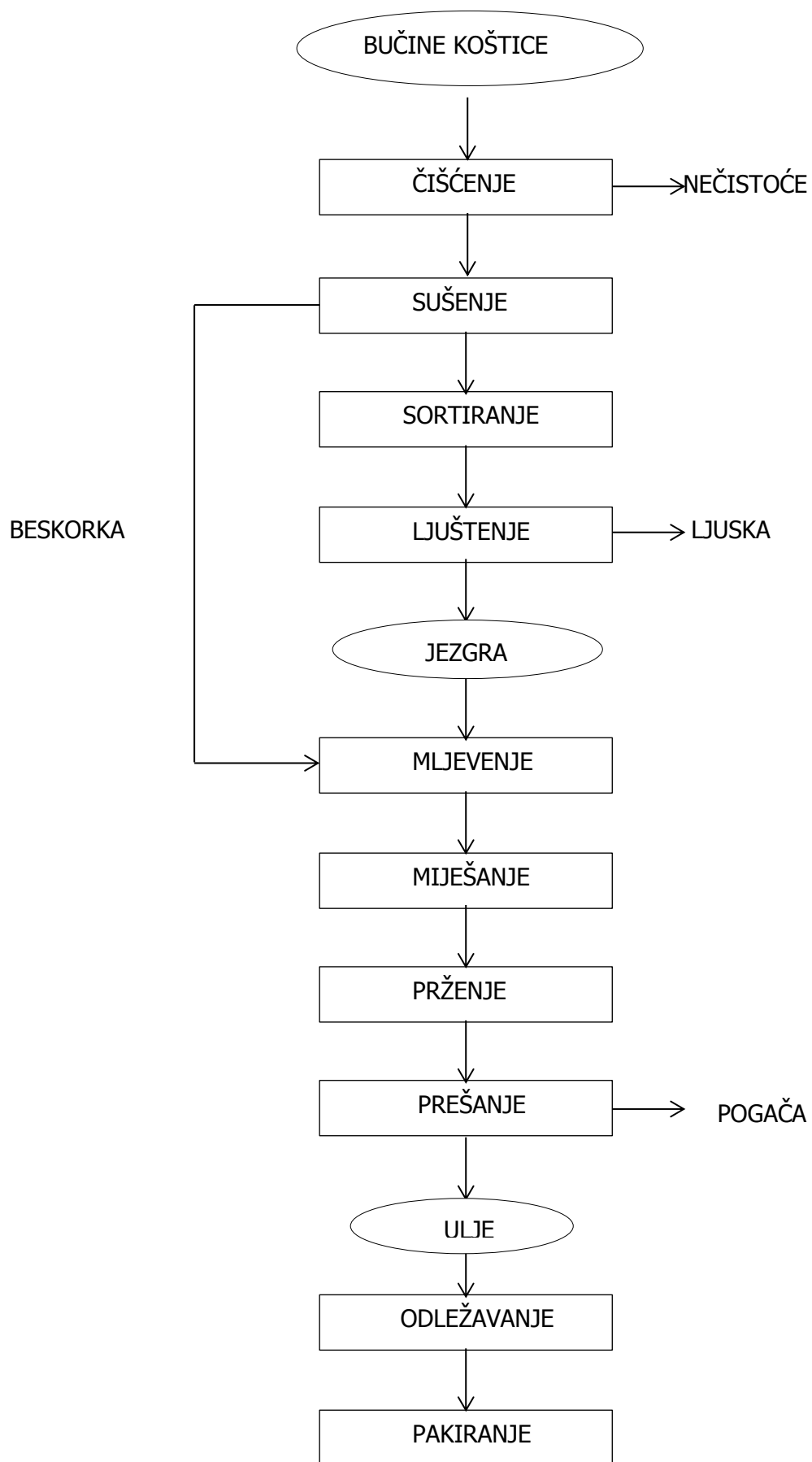
Bučino ulje proizvodi se isključivo prešanjem te se na tržište može plasirati kao nerafinirano ili hladno prešano ulje. Da bi dobili ulje visoke kvalitete bitno je odabrati odgovarajući tehnološki proces i na odgovarajući način pripremiti sjeme. Tehnološki proces proizvodnje bučinog ulja se sastoji od nekoliko postupaka (Slika 3.).

Nakon prihvata, sjemenke najprije treba dobro oprati dovoljnom količinom vode kako bi se uklonila sluz i zaostale primjese. Ako se dobro ne operu, zaostala sluz i nečistoće otežavaju i time poskupljuju proces sušenja sjemenki, mogu oštetiti strojeve i utjecati na smanjenje kvalitete proizvedenog ulja ili pogače.

Nakon pranja slijedi sušenje sjemenki koje se provodi na temperaturama od 40 do 60 °C. Sjemenke se suše sve dok se udio vode u sjemenu ne snizi ispod skladišne vlažnosti kako bi se moglo skladištiti bez opasnosti od kvarenja. Koštice se skladište podno u tankom sloju u rasutom stanju, a ponekad i u vrećama iako to nije najpogodnije.

Neposredno prije proizvodnje ulja iz običnih koštica provodi se ljuštenje prije kojeg se koštice sortiraju kako bi se olakšalo ljuštenje. Ljuštenje se provodi na kamenim mlinovima nakon čega se ljuska odvaja provjetravanjem. Ljuštenje je kritična točka proizvodnje bučinog ulja iz razloga što ljuska može u fazi prženja zagorjeti čime bi ulje poprimilo loš okus i miris. Ako se ulje proizvodi iz golica, cijeli proces sortiranja i ljuštenja se preskače. Oljuštene sjemenke idu na mljevenje u mlinove na valjke. Usitnjavanjem koštica dolazi do razaranja stanica čime se olakšava izdvajanje ulja. Samljevene koštice idu u miješalice gdje se pripremi tijesto određene konzistencije. Provodi se uz dodatak tople vode (80°C) u količini od 20%, uz miješanje.

Takvo homogenizirano tijesto stavlja se u pržionik u kojem se provodi prženje na temperaturama od 100 do 130 °C, 45-90 min. Vrijeme trajanja prženja ovisi o konzistenciji tijesta. Prženje je najvažnija faza proizvodnje nerafiniranoga bučinoga ulja. Zagrijavanjem samljevenog sjemena te njegovim vlaženjem i sušenjem dolazi do bubrenja proteina eleoplazme, a onda i do koagulacije čime je poremećena unutarnja ravnoteža. Radi toga prestaju djelovati međumolekulske sile, stanične stijenke pucaju i ulje se skuplja u veće kapljice. Zagrijavanjem dolazi i do smanjenja viskoznosti ulja i ono lakše izlazi (Rac, 1964). Upravo zbog prženja, ulje ima svojstven okus i miris i crvenkasto-smeđu boju.



Slika 3. Shema tehnološkog procesa dobivanja bučinog ulja (Rac, 1964)

Prženo tijesto se puni u perforirani cilindar hidrauličkih preša i preša u dvije faze, najprije tlakom do 100 bara, a zatim tlakom od 300 do 500 bara, 15 do 20 minuta.

Dobiveno ulje bistri se taloženjem u rezervoaru 10-15 dana ili se bistri centrifugiranjem. Izbistreno ulje se puni u boce od tamnog stakla. Pogača koja je dobivena ovim načinom prerade sadrži 6-15% ulja i koristi se kao stočna hrana (Škevin, 2016).

2.3. Kemijski sastav bučinog ulja

Biljna ulja se sastoje od gliceridne i negliceridne frakcije. Gliceridna frakcija čini oko 98% ulja i tu spadaju trigliceridi nastali esterifikacijom alkohola glicerola i masnih kiselina, zatim digliceridi, monogliceridi te slobodne masne kiseline. Negliceridna frakcija čini preostalih 1 do 2% ulja, i to su spojevi koji se prirodno nalaze u uljima i mastima, ali u svojoj strukturi ne sadrže glicerol. Kemijska i fizikalna svojstva ulja i masti ovise o sastavu masnih kiselina, dok nutritivna svojstva prvenstveno ovise o sastavu negliceridnih spojeva (Rac, 1964).

2.3.1. Masne kiseline

Masne kiseline su uglavnom nerazgranate molekule različitih duljina, koje imaju Δ kraj (karboksilna grupa na kraju lanca) i ω kraj (metilna grupa na kraju lanca). Dobivaju se hidrolizom triacilglicerola, a mogu biti zasićene te jednostruko i višestruko nezasićene. (Pine, 1994)

Zasićene masne kiseline sadrže sve vodikove atome koji atom ugljika može vezati i zbog toga takve masne kiseline nemaju dvostruku vezu (Zamora, 2008.). U uljima i mastima su najzastupljenije one koje sadrže između 12 i 22 ugljikova atoma.

Nezasićene masne kiseline se dijele na mononezasićene koje u svojoj strukturi sadrže jednu nezasićenu vezu i polinezasićene koje sadrže dvije ili više dvostrukih veza. Dvostruka veza se može nalaziti u dva položaja, *cis* i *trans* obliku. Trans oblici nezasićenih veza su puno stabilniji i imaju višu točku topljenja, ali pokazuju negativan učinak na ljudsko zdravlje jer uzrokuju povećanje udjela LDL-a u krvi i time povećavaju rizik od krvožilnih i kardiovaskularnih bolesti (Reiner, 2008).

Sastav masnih kiselina bučinog ulja ovisi o vrsti buče, klimatskim uvjetima i procesu proizvodnje (Idouraine i sur., 1996).

Sastav masnih kiselina bučinog ulja je sličan sastavu masnih kiselina ulja iz porodice Cucurbitaceae i drugim biljnim uljima, npr. suncokretovom ulju (Badifu, 1991; Bertoni i sur.,

1994). U ulju dominiraju (<98%) palmitinska, stearinska, oleinska i linolna kiselina (Murkovic i sur., 1996). Nezasićene masne kiseline, oleinska i linolna, čine 78-79% (Younis i sur., 2000).

Tablica 2. Sastav masnih kiselina u ulju bučinih koštica prema nekim autorima navedenim u tablici

Autori	Masne kiseline							
	14	16	161	18	181	1812	183	20
Younis i sur. (2000)	-	11,2	-	8,2	28,3	50,3	0,2	-
Murkovic i sur. (1999)	-	9,9	-	6,2	41	41,2	-	-
Dimić (2005)	-	14,15	-	7,59	34,97	42,97	-	-
Idouraine i sur. (1996)	-	12,8- 15,8	-	5,2- 8,3	46,6- 60,4	9,6- 27,9	0,12- 0,79	0,35- 0,99
Rade i sur.(1986)	-	12,55- 16,03	-	5,13- 5,85	19,19- 25,64	54,87- 61,35	tragovi	-
Pravilnik (2012)	ND- 0,2	6-16	ND	3-13	16-43	38-58	ND- 1,0	ND- 1,0

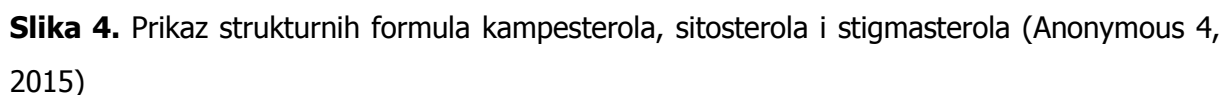
2.3.2. Negliceridni sastojci

U negliceridne sastojke ulja i masti ubrajamo tokoferole, sterole, skvalene, pigmente (karotenoidi i klorofili), vitamini A, D, K i drugi. Zajedničko im je što u svojoj strukturi ne sadrže glicerol te u reakciji s lužinama ne daju sapune pa su stoga i neosapunjivi spojevi (Škevin, 2016).

Steroli, još poznati i kao steroidni alkoholi su podgrupa steroida. U biljnim uljima se nalaze biljni steroli, znani kao fitosteroli, od kojih su najpoznatiji kampesterol, sitosterol i stigmasterol. Po funkciji i strukturi su slični kolesterolu, a nastaju biosintezom iz skvalena.

Brojnim je studijima dokazana njihova djelotvornost u pogledu poboljšanja serumskih lipida kod ljudi i životinja, a time i smanjenje rizika od nastanka kardiovaskularnih bolesti. Djelovanje biljnih sterola na smanjenje razine kolesterola je posljedica biokemijskih reakcija u kojima njihove molekule zauzimaju mjesto kolesterola u micelama i tako smanjuju njegovu

$\Delta 7$ -steroli su specifični za ulje bučinih sjemenki i pridonose blagotvornom učinku u liječenju bolesti prostate i poremećaja mokraćnog mjehura (Neđeral-Nakić i sur., 2006). Na 7C atomu u B prstenu sadrže dvostruku vezu, što se rijetko pronalazi u drugim biljnim košticama. U istraživanju koje su proveli Rezig i suradnici (2012) udio ukupnih sterola u bučinom ulju je 1278,8 mg kg⁻¹, gdje su najviše zastupljeni steroli s 270 mg kg⁻¹, a količina $\Delta 7$ -avenosterola čini 60 mg kg⁻¹.



Skvalen je triterpenski ugljikovodik koji se sastoji od 6 izoprenskih jedinica sa šest dvostrukih veza kemijske formule $C_{30}H_{50}$. Na sobnoj temperaturi je u uljnom obliku, bezbojan ili svijetlo žute boje, blagog i ugodnog mirisa. Biokemijski je prekursor sterola. U ljudskom organizmu se sintetizira u jetri i onda ugrađuje u različita tkiva ili se nastavi dalje metabolizirati. Najčešće se koristi u kozmetičkoj industriji gdje se skvalen hidrogenima, dolazi do formiranja skvalana koji je sastavni dio kozmetičkih pripravaka. U bučinom ulju se nalazi u količini od 5906,9 mg kg⁻¹ (Nyam i sur., 2009).

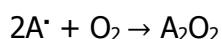
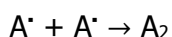
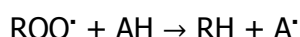
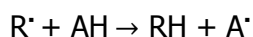


8

karoten. Iako su različite skupine vitamina B pronađene u cijelim bundevama, nema podataka o njihovoj pojavi u sjemenkama ili odgovarajućim uljima (Fruhworth i Hermetter, 2007).

Vrlo važnu skupinu neglicerinih spojeva čine antioksidansi. To su većinom aromatski spojevi fenolnog karaktera s dvije hidroksilne grupe u para- i orto- položaju koje omogućuju prelaženje tog spoja kinonski, odnosno hidrokinonski i obrnuto. To su spojevi koji poboljšaju prirodnu održivost masti i ulja na način da inhibiraju autooksidaciju. Prepuštaju svoj vodik slobodnom aktiviranom radikalu masne kiseline ili slobodnom radikalu peroksida, zbog čega dolazi do prekidanja lančane reakcije i usporavanja procesa autooksidacije.

Mehanizam djelovanja antioksidanasa može se prikazati shemom (Slika 6.) u kojoj je slobodni radikal masne kiseline označen sa R^{\bullet} , slobodni radikal hidroperoksida ROO^{\bullet} , a antioksidans s AH:



Slika 6. Mehanizam djelovanja antioksidanasa (Rade i sur., 2001)

Nastali spojevi A_2 i A_2O_2 su stabilni i ne djeluju na daljnje promjene u procesu autooksidacije. Fruhwirth i Wenzl (2003) su u svom istraživanju otkrili da daleko najveći antioksidacijski kapacitet od ispitivanih ulja ima upravo bučino ulje.

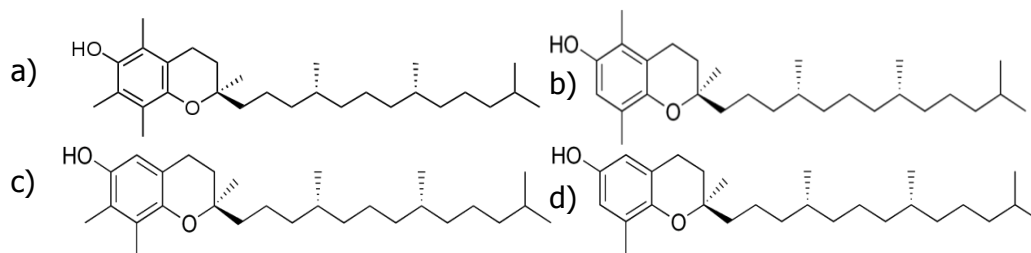
Danas je poznat veliki broj prirodnih, ali i sintetskih antioksidanasa. Najpoznatiji prirodni su tokoferoli i fenoli.

Zbog svoje važne zaštitne uloge tijekom oksidacije polinezasićenih masnih kiselina, prisutstvo tokoferola u ulju je od iznimne važnosti. Tokoferoli su najpoznatiji prirodni antioksidansi, koji su zbog svoje funkcije u organizmu nazvani E vitaminom. Sastoje se od zasićenog diterpenskog bočnog lanca na aromatskoj skupini, a razlikuju se po broju metilnih grupa i njihovom položaju u molekuli. (Pine, 1994).

Danas je poznato 8 vrsta tokoferola, no za industriju ulja su bitna 4 stereoizomerna oblika: α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol i δ -tokoferol. Najbolje antioksidacijsko djelovanje ima δ -tokoferol dok najjače antioksidacijsko djelovanje u hrani ima γ -tokoferol.

Prema provedenim istraživanjima, bučino ulje sadrži 2,0-4,9 mg 100 g⁻¹ α -tokoferola, 1,5-5,4 mg 100 g⁻¹ γ -tokoferola i 0,3-1,1 mg 100 g⁻¹ δ -tokoferola (Murkovic i Pfannhauser, 2000). Osim što tokoferoli imaju dokazano djelovanje na prevenciju raka, krvožilnih bolesti i

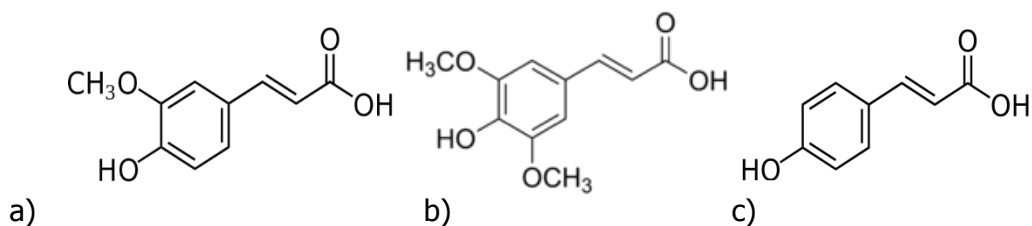
smanjenje Alzheimerove bolesti (Nyam i sur., 2009), velika količina tokoferola doprinosi i njegovoj stabilnosti i otpornosti na oksidaciju (Delaš, 2010).



Slika 7. Strukturne formule: a) α-tokoferol, b) β-tokoferol, c) γ-tokoferol i d) δ-tokoferol (Anonymous 5, 2013)

Fenoli su spojevi u kojima je hidroksilna skupina (-OH) direktno vezana na benzenski ili aromatski prsten. Na njihovu bioaktivnost utječe broj OH-skupina, dok na sami sadržaj polifenola u biljkama utječe vrsta, uzgoj, stupanj zrelosti ploda, okoliš te uvjeti prerade i skladištenja ploda. Zbog svojih atributa, poput okusa, roka trajanja i otpornost na oksidaciju igraju važnu ulogu u ulju.

U ulju bučinih koštica (*Cucurbita maxima* var. „Béjaoui”) identificirano je 6 fenolnih kiselina: siriginska, ferulinska, kavsa kiselina, *p*-kumarinska kiselina, vanilinska kiselina i protokatehinska kiselina (Rezig i sur., 2012). Ferulinska kiselina djeluje kao antioksidans, smanjuje rizik od nekih degenerativnih bolesti (srce, oči), štiti od raka (želudac, debelo crijevo, grudi, prostate, jetre, pluća). Kavsa kiselina djeluje isto kao antioksidans, služi za zaštitu od raka, a esteri kava kiseline imaju antikancerogeno i antiupalno djelovanje.



Slika 8. Prikaz strukturne formule: a) fumarinske b) sinapinske c) *p*-kumarinske kiseline (Ereyuwa i sur., 2014)

Klorofil i njegovi magnezijски derivati su pigmenti koji ulju daju boju i djeluju kao fotosenzibilizatori. Porfirinski sustav im je parcijalno hidrogeniran, a kada je magnezij zamijenjen vodikom nazivaju se feofitini i oni zajedno s klorofilima imaju sposobnost apsorpcije energije u vidljivom i UV području čime prelaze u pobuđeno stanje. U uljima mogu djelovati kao prooksidansi, a u mraku i kao antioksidansi.

Ako ulje stoji na svjetlu, uz prisutnost klorofila kao prooksidanasa, kisik iz zraka postaje singlet kisik koji se veže na dvostruke veze i dolazi do formiranja peroksida. Peroksid ulazi u lančane reakcije ulja i dolazi do kvarenja ulja. Klorofil a je sivo-zelene boje, a klorofil b žuto-zelene boje, dok feofitin a i b daju smeđastu boju ulju.

Ovi pigmenti prisutni su unutarnjem sloju tkiva svih *Cucurbito pepo* sjemenki, a u ulje dopijaju proizvodnjom. Udio ukupnih klorofila u ulju bučinih koštica iznosi 8,4-27,3 mg kg⁻¹ (Štrucelj, 1981).

Bučino ulje je ulje specifičnog okusa i mirisa. Ima karakterističnu aromu koju opisuju kao orašastu, pečenu, začinjenu, blago zelenu i masnu. Aroma nastaje tijekom proizvodnje ulja, u prženja bučinih koštica. Relativno visoka temperatura i određeno vrijeme prženja su neophodni za razvitak te specifične arome ulja. Miris ulju daju aldehidni spojevi koji nastaju Streckerovom razgradnjom. U istraživanju koje su proveli Siegmund i Murkovic (2004) došlo je do znatnog povećanja koncentracije 2-metilpropanala, 3-metilbutanala, 2-metilbutanala i fenilacetaldehida, pogotovo tijekom zadnjih 20 minuta procesa kad su temperature porasle iznad 100 °C. Koncentracije 2-metilpropanala, 3-metilbutanala i 2-metilbutanala na početku prženja su se lagano smanjile prije nego što je došlo do znatnijeg povećanja. Pretpostavka je da je primarno zagrijavanje dovelo do evaporacije već postojećih aldehida u bučnim sjemenkama. Zagrijavanjem se ubrzala reakcija Streckerove razgradnje što je rezultiralo povećanjem koncentracije spojeva. Veliko povećanje u koncentraciji pokazali su i pentanal, heksanal, 2-heptanal i nonanal koji ulju daju svježiu i blago zelenu aromu. Ketoni koji su identificirani kroz sve faze prženja daju blago voćnu aromu ulju.

Maillardov-ove reakcije su reakcije koje započinju između slobodne amino skupine aminokiseline, peptida ili proteina i karbonilne skupine reducirajućih šećera (Ledl i Schleicher, 1990). Sastoji se od tri faze: inicijalna ili početna faza, faza stvaranja međuprodukata i finalna faza. Ove reakcije su važne u prehrambenoj industriji jer se temelji na činjenici da mijenjaju neke važne značajke poput arome, boje, antioksidacijskih svojstava i prehrambene vrijednosti. U bučinom ulju su pronađeni 2-metilpirazin, 2,5-dimetilpirazin, 2-etilpirazin, 2-etil-(6)-metilpirazin i 2-etil-3,6-dimetilpirazin. Stvaranje pirazina posljedica je Maillardovih reakcija u uvjetima prženja bučinih koštica. Ovi pirazini povezuju se s aromama poput prženo, orašasto, poput kave, drveno i zemljasto. Identificiran je i 2-acetilpirol, također nastao kao produkt Maillardovih reakcija, koji dodatno pojačava prženu aromu ulja.

Da bi došlo do formiranja ovih produkata, uočljivo je da su potrebni određeni uvjeti koji se postižu upravo prženjem bučinih koštica. I upravo su ti spojevi odgovorni za specifičnu aromu bučinog ulja (Siegmund i Murkovic, 2004).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

U ovom radu, s ciljem uspoređivanja antioksidacijske aktivnosti, korištena su nerafinirana bučina ulja proizvedena na području Međimurske županije. Ulja su proizvedena u 3 uljare pri različitim temperaturama prženja. U Tablici 3. prikazan njihov opis.

Tablica 3. Opis uzoraka bučinog ulja

Opis uzorka	Temperatura prženja (°C)
Proizvođač 1	
Uzorak 1	120
Uzorak 2	130
Uzorak 3	140
Proizvođač 2	
Uzorak 4	120
Uzorak 5	130
Uzorak 6	140
Proizvođač 3	
Uzorak 7	120
Uzorak 8	130
Uzorak 9	140

- DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil radikal) (Fluka)
- etil-acetat

3.2. Metode rada

3.2.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH[·] metodom

Antioksidacijska aktivnost je određivana metodom koju su prethodno opisali Kalantzakis i suradnici (2006). Prirodni antioksidansi koji su prisutni u bučinom ulju u reakciji s DPPH[·] radikalom stvaraju stabilan kompleks. Na taj način utječu na izbjeljivanje otopine ulja i radikala što se onda detektira spektrofotometrijski.

1 mL otopine ulja u etil-acetatu (10% m V⁻¹) doda se u 4 mL otopine DPPH[·] u etil-acetatu tako da koncentracija DPPH[·] u reakcijskoj smjesi bude 0,0001 mol L⁻¹. Epruveta s reakcijskom smjesom se zatvori čepom i promiješa na Vortex aparatu 10 s. Paralelno se pripremi i slijepa proba s 4 mL etil-acetata i 1 mL otopine ulja. Epruvete sa slijepom probom se zatvore čepom i 5 s promiješaju na Vortex aparatu. Sve epruvete se potom stave u mraku 30 min. Reakcijskoj smjesi mjerena je apsorbancija na 515 nm u nultoj minuti u tridesetoj minuti koristeći spektrofotometar (Specord 50 plus, Analytik Jena, Njemačka).

Prije provođenja analiza izrađen je baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o molarnoj koncentraciji DPPH[·] od 0,001 do 0,1 mol L⁻¹. Pomoću njega se u uzorcima određuje koncentracija DPPH[·] u nultoj minuti i koncentracija preostalog DPPH[·] nakon reakcije.

Određivanje koncentracije DPPH[·] prema jednadžbi:

$$x = \frac{(y-0,0009)}{11,27} \quad [1]$$

gdje je:

x = koncentracija DPPH[·] (mmol L⁻¹)

y = apsorbancija na 515 nm

Nakon izračuna koncentracije, izračunat je i % redukcije koncentracije DPPH[·] radikala prema izrazu :

$$\% \text{ red DPPH}^{\cdot} = 100 \cdot \left(1 - \frac{[DPPH^{\cdot}]_{30}}{[DPPH^{\cdot}]_0}\right) \quad [2]$$

gdje je:

[DPPH[·]]₃₀ = koncentracija DPPH[·] u tridesetoj minuti (mmol L⁻¹),

[DPPH[·]]₀ = koncentracija DPPH[·] u nultoj minuti (mmol L⁻¹).

3.2.2. Statistička obrada

Statistička obrada podataka korištena je kako bi se utvrdio utjecaj temperatura prženja sjemenki na antioksidacijsku aktivnost ulja. Provedena je analiza varijance, a za statističku obradu podataka korišten je Excel 2010.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Ispitivanje je provedeno na uzorcima ulja proizvedenim u tri različite uljare na području Međimurske županije. Svaka uljara koristila je svoje bučnine sjemenke proizvedene u 2016. godini. Od svake od tri vrsti sjemenki proizvedena su tri ulja na tri različite temperature prženja bučinih sjemenki (120, 130 i 140°C). Proizvedenim nerafiniranim uljima je određena antioksidacijska aktivnost DPPH[•] metodom. DPPH[•] je radikal punim imenom 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil, ljubičasto obojen koji s antioksidansima koji su prisutni u uzorcima ulja on tvori stabilan kompleks čime dolazi do izbjeljivanja otopine. Promjena boje otopine praćena je spektrofotometrijski (Kalantzakis i sur., 2006). Što je ulje više izbijelilo otopinu radikala to je znak da ima visok udio antioksidanasa i postotak redukcije radikala DPPH[•] će biti veći.

Analiza je provedena u najmanje 2 paralelna mjerenja, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost tih mjerenja.

Tablica 4. Antioksidacijska aktivnost bučinih ulja

Uzorak*	% red DPPH [•]
1	60,71
2	59,90
3	60,42
4	62,57
5	61,65
6	64,72
7	66,14
8	68,03
9	67,62

*opis uzoraka se nalazi u Tablici 3.

Tijekom tradicionalne proizvodnje bučinog ulja, bučine sjemenke se najprije melju, a onda se nastala smjesa prži kako bi se dobila tipična aroma nerafiniranog bučinog ulja. Tijekom procesa prženja smjesa se kontinuirano miješa da se izbjegne pregrijavanje i stvaranje nepoželjnih okusa i mirisa (Basić i sur., 2012). Kao što je ranije napomenuto, u ovom radu koristila su se ulja u čijem je procesu proizvodnje prženje bučinih koštica provedeno na temperaturama od 120 °C, 130 °C i 140 °C. Prženje se provodi kako bi se razvila poželjna aroma nerafiniranog bučinog ulja no poznato je kako u procesu prženja

dolazi i do promjena u udjelu i sastavu komponenata koje imaju antioksidacijsko djelovanje (Murkovic i sur.,2004).

U ovom radu, antioksidacijska aktivnosti nerafiniranih bučinih ulja iznosila je od 60 do 68 %. Ti su rezultati u skladu s rezultatima za antioksidacijsku aktivnost bučinoga ulja objavljenim u diplomskom radu Pavleković (2011). Antioksidacijska aktivnost nerafiniranog bučinog ulja iznosila je 60,9 %. Uspoređujući rezultate antioksidacijske aktivnosti bučinog ulja s hladno prešanim suncokretovim uljem, koje ima antioksidacijsku aktivnost 80,47% i hladno prešano repičino ulje, koje ima antioksidacijsku aktivnost 76,11% (Pavleković,2011), bučino ulje ima puno manju antioksidacijsku aktivnost. I suncokretovo i repičino ulje sadrže veći udio ukupnih tokoferola od bučinog ulja (Škevin, 2016).

Antioksidacijska aktivnost analiziranih bučinih ulja značajno je ovisila o temperaturi prženja sjemenki ($p < 0,05$). Vidljivo je da između prva tri uzorka proizvedena kod proizvođača 1 nema značajne razlike u antioksidacijskoj aktivnosti. U ostalim uzorcima (4-9) vidljiv je trend porasta antioksidacijske aktivnosti s temperaturom prženja. Razlog tome može se pronaći u različitom utjecaju temperature na pojedine komponente koje posjeduju antioksidacijsko djelovanje. Na početku prženja ulje izlazi iz stanične strukture te zbog povećane učinkovitosti ekstrakcije dolazi do povećanja koncentracije tokoferola u uljima. Dužim prženjem dolazi do oksidacijskih reakcija zbog čega dolazi do smanjenja koncentracije tokoferola i posljedično do smanjenja antioksidacijske aktivnosti (Murkovic i sur., 2004).

No u procesu prženja dolazi i do Maillardovih reakcija. Produkti Maillardovih reakcija, koji su odgovorni za aromu koja nastaje, a koja je opisana kao orašasta, pikantna, pržena i masna, su pirazini. Da bi došlo do stvaranja produkata Maillardovih reakcija trebaju biti zadovoljeni određeni uvjeti temperature i vremena prženja. Povećanjem temperature prženja iznad 100 °C dolazi do gotovo eksponencijalnog rasta pirazina. Istraživanja su pokazala kako nastali produkti Maillardovih reakcija također posjeduju antioksidacijska svojstva (Murkovic i sur., 2004).

S obzirom na dobivene rezultate, prilikom proizvodnje bučinog ulja preporučljivo je korištenje viših temperatura (od 130 i 140°C) jer takva ulja pokazuju viši antioksidacijski potencijal.

5. ZAKLJUČAK

Iz dobivenih rezultata dobivenih u ovom radu može se zaključiti da:

1. Temperatura prženja bučinih sjemenki ima značajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost ulja nerafiniranog bučinog ulja
2. Povećanjem temperature dolazi do povećanja antioksidacijske aktivnosti nerafiniranog bučinog ulja, vjerojatno zbog sinergističkog djelovanja prirodno prisutnih tokoferola i nastalih produkata Maillardovih reakcija.
3. S aspekta antioksidacijske aktivnosti, više temperature prženja (130 i 140°C) pogodnije su za proizvodnju nerafiniranog bučinog ulja.

6. LITERATURA

Anonymous 1 (2016) Food of the week: Pumpkin < <http://www.kineticsnj.com/food-week-pumpkin/>>, Pristupljeno 20.Lipnja 2017.

Anonymous 2 (2016) Bučine golice i koštice < <https://advent.hr/namirnice/bucine-golice-i-kostice-16/>>, Pristupljeno 20.Lipnja 2017

Anonymous 3 (2015) Bundeve sjemenke < <http://www.lamba.hr/proizvodi/sjemenke/bundeve-sjemenke-2/>>, Pristupljeno 20.Lipnja 2017.

Anonymous 4 (2015) Cultivates flax: Fla < [http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/F/Flax\(Cultivated\)/Flax\(Cultivated\).htm](http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/F/Flax(Cultivated)/Flax(Cultivated).htm)>, Pristupljeno 23.Lipnja 2017.

Anonymous 5 (2013) Tokoferole w kosmetologii < <http://biotechnologia.pl/kosmetologia/tokoferole-w-kosmetologii,12355>>, Pristupljeno 23.Lipnja 2017.

Badifu G.J.O. (1991) Chemical and physical analysis of pils from four species of *Cucurbitaceae*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **68**: 428-432.

Basić Z., Vujasinović V., Djilas S., Dimić E., Radočaj O. (2012) The effect of roasting in the chemical composition and oxidative stability of pumpkin oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* **114**: 585-574.

Bertoni M.H., Gonzales A.P., Cattanco P. (1994) Fruits of *Cucurbita moschata* Duch 2. Characteristic and acidic composition of the extracted crude seed oil. *Anales De La Asociacion Quimica Argentina* **82**: 131-133.

Delaš I. (2010) Zaboravljene vrijednosti-bučino ulje, *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **5**: 38-42.

Dimić E. (2005) Hladno ceđena ulja, Monografija, Tehnološki fakultet Novi Sad. str. 10.

Ereyuwa O.O., Sulaiman S.A., Wahab M.S.A. (2014) Effects of Honey Its Mechanisms of Action on the Development and Progression of Cancer. *Molecules* **19**: 2497-2522.

Fruhworth G., Hermetter A. (2007) Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *European Journal of Lipid Science and Technology* **109**: 1128-1140.

Fruhworth G., Wenzl T. (2003) Fluorescence screening of antioxidant capacity in pumpkin seed oils and other natural oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **105**: 266-274.

Idouraine A., Kohlhepp E.A., Weber C.W. (1996) Nutrient constituents from eight lines of naked seed squash (*Cucurbita pepo* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**: 721-724.

Kalantzakis G., Blekas G., Pegklidou K., Boskou D. (2006) Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **108**: 329-335.

Ledl F., Schleicher E. (1990) New Aspects of the Maillard Reaction in Foods and in the Human Body. *Angewandte Chemie International Edition* **29**: 565-594.

Murkovic M., Hillebrand A., Draxl S., Winkler J., Pfannhauser W. (1999) Distribution of fatty acids and vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.) in breeding lines. *Acta Horti* **492**: 47-55.

Murkovic M., Hillebrand A., Winkler J., Leitner E., Pfannhauser W. (1996) Variability of fatty acids content in pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* **203**: 216-219.

Murkovic M., Pfannhauser W. (2000) Stability of pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* **102**: 607-611.

Murkovic M., Piironen V., Lampi A.M., Kraushofer T., Sontag G. (2004) Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds). *Food chemistry* **84**: 359-365

Neđeral-Nakić S., Rade D., Škevin D., Štrucelj D., Mokrovčak Ž., Bartolić M. (2006) Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L. *European Journal of Lipid Science and Technology* **108**: 936-943

Nyam K.L., Tan C.P., Lai O.M., Che Man Y.B. (2009) Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. *LWT – Food Science and Technology* **42**: 1396-1403

Pavleković M. (2011) Sastav bioaktivnih komponenata nekih ulja. Diplomski rad, Zagreb: Prehrambeno-biotehnološki fakultet.

Pine S.H. (1994) Organska kemija, 3.promij. izd., Školska knjiga. str. 859-908.

Pleh I., Kolak I., Dubravec K.D., Šatović Z. (1998) Sjemenarstvo bundeva. *Sjemenarstvo* **15**: 43-75.

Pravilnik o jestivim uljima i mastima (2012) *Narodne novine* **41** (NN 41/2012).

Reiner Ž. (2008) Uloga prehrane u prevenciji i terapiji kardiovaskularnih bolesti. *Medicus*. str 93-103.

Rac M. (1964) Ulja i masti, Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja. str. 103-104; 218-220; 448-456.

Rade D., Mokrovčak Ž., Štrucelj D. (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux.

Rade D., Štrucelj D., Mokrovčak Ž., Tkalčić I., Palaisa I. (1986) Održivost sirovih ulja dobivenih prešanjem. V sastanak prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista Hrvatske, Zagreb. *Prehrambeno-tehnološka i Biotehnološka Revija* **24**: sažetak R-S (1-5), str. 56.

Rezig L., Chouaibi M., Msaada K., Hamdi S. (2012) Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Industrial Crops and Products* **37**: 82-87.

Siegmund B., Murkovic M. (2004) Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 2: volatile compounds). *Food Chemistry* **84**: 367-374.

Škevin D. (2016), Interna skripta iz Kemije i tehnologije ulja i masti. Prehrambeno-biotehnološki fakultet. str. 45-49.

Štrucelj D. (1981) Prilog o proučavanju lipidnih i proteinskih sastojaka bundevinih koštica i primjena nastalih pri preradi, Disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb. str. 113-114.

Younis Y.M.H., Ghirmay S., Al-Shihry S.S. (2000) African *Cucurbita pepo* L. properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *Phytochemistry* **54**: 71-75

Zamora A. (2008) Scientific Physic: Fats, oils, fatty acids, tryglicerides <<http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids.html>>, Pristupljeno 19. Lipnja 2017.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mogeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Maja Macat

ime i prezime studenta